

DETEKSI DAN PEMISAHAN SEL DARAH PUTIH BERTUMPUK MENGGUNAKAN ANALISIS DISTANCE MARKER DAN GRADIENT-BARRIER WATERSHED UNTUK IDENTIFIKASI JENIS SEL DARAH PUTIH PADA CITRA MIKROSKOPIK SEL DARAH

Disusun Oleh :

¹BENNY AFANDI, ²CHASTINE FATICHAH, ³NANIK SUCIATI

^{1,2,3} Jurusan Teknik Informatika, Fakultas Teknoogi Informasi, ITS

Kampus ITS Keputih, Sukulilo, Surabaya

Email : ¹b2nafandi@gmail.com, ²chastine.faticah@gmail.com, ³naniksuciati@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini mengusulkan sebuah skema baru dalam mendeteksi dan memisahkan sel darah putih bertumpuk menggunakan Analisis Distance Marker dan Gradient Barrier Watershed untuk mengidentifikasi jenis sel darah putih. Analisa sebuah objek bertumpuk dapat ditinjau dari pengetahuan terhadap informasi objek itu sendiri. Marker merupakan representasi objek yang dapat digunakan sebagai informasi dalam mendeteksi objek bertumpuk. Ketika kedua objek bertumpuk, marker kedua objek tetap terbentuk dan terpisah. Objek sel darah putih bertumpuk harus dipisahkan terlebih dahulu sebelum melakukan identifikasi jenis sel darah putih. Metode Gradient-Barrier Watershed mampu melakukan pemisahan objek bertumpuk dengan baik dibandingkan menggunakan metode Watershed tradisional. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode deteksi yang diusulkan mempunyai tingkat akurasi baik sebesar 87,5%. Hasil identifikasi jenis sel darah putih menunjukkan tingkat akurasi sebesar 67,09%.

Kata Kunci : *Sel Darah Putih Bertumpuk, Analisis Distance Marker Gradient-Barrier Watershed, Klasifikasi Sel Darah Putih.*

ABSTRACT

This study proposes a new scheme to detect and separate the overlapping white blood cells using distance marker analysis and gradient barrier watershed for type identification of white blood cell. Analysis of an overlapping object can determinate from the information of the object shape itself. Markers of object can be used as information for detection of an overlapping objects. When the two objects overlap, the both marker objects still have separately formed. Overlapping white blood cells objects should be separated before identifying of white blood cell type. Gradient-barrier watershed method is able to overcome the overlapping separation objects better than using traditional Watershed method. The result shown that the proposed detection method perform well with accuration level up to 87,5%. Futhermore, the identification white blood cells type method shown accuration level up to 67,09%.

Key Word : *Overlapping White Blood Cells, Distance Marker Analysis, Gradient-Barrier Watershed, White Blood Cells Clasification.*

1. PENDAHULUAN

Pemrosesan citra patologis berperan penting dalam mengkarakteristikkan dan memvisualisasikan untuk mengidentifikasi sebuah penyakit. Salah satu parameter dalam menentukan sebuah penyakit adalah dengan mengetahui karakteristik sel darah putih umumnya menyangkut jenis, bentuk dan populasi sel. Evaluasi sel darah putih umumnya dilakukan secara visual dibawah mikroskop setelah dilakukan proses staining. Evaluasi sel membutuhkan pemahaman dan pengalaman operator patologis. Evaluasi visual semacam ini, membutuhkan waktu yang lama, susah untuk diproduksi ulang dan subjektif (Saraswat, 2014).

Citra sel darah putih hasil pengamatan mikroskop memiliki keragaman yang kompleks baik secara konten dan morfologi sel. Keberagaman ini berhubungan dengan proses staining, seperti konsentrasi larutan, umur larutan serta slide bernoda. Keragaman secara konten meliputi keberagaman warna dan iluminasi. Morfologi sel darah putih dalam citra mikroskopis dapat berbentuk sebagai sel tunggal maupun sel yang bertumpuk. Keberadaan sel darah putih bertumpuk dapat mengurangi akurasi dalam proses identifikasi dan perhitungan jumlah sel.

Penelitian terkait deteksi dan perhitungan sel darah putih bertumpuk umumnya menggunakan metode berbasis informasi bentuk (Fathichah dkk, 2014; Nazlibilek dkk, 2014) serta analisa kontur dan concavity point (Yu. D dkk, 2009; Bai X dkk, 2009; Lin. P dkk, 2014). Pendekatan menggunakan informasi bentuk umumnya lebih cepat dan stabil, akan tetapi tidak tahan terhadap bentuk sel darah putih. Pendekatan menggunakan analisa kontur dan concavity bergantung kondisi tepi sel dan nilai concavity yang baik.

Analisa sebuah objek bertumpuk dapat ditinjau dari pengetahuan terhadap bentuk objek itu sendiri. setiap objek mempunyai marker yang merupakan local maxima dalam inner distance map objek. Ketika kedua objek bertumpuk, marker kedua objek tetap terbentuk dan terpisah. Informasi marker-marker tersebut dapat digunakan sebagai pendeteksi objek bertumpuk. Objek bertumpuk haruslah dipisahkan terlebih dahulu sebelum melakukan identifikasi jenis sel darah putih. Metode modifikasi watershed yang disebut sebagai gradient-barrier menggunakan informasi gradient ke dalam geometrical watershed (Yang dkk, 2013). Metode gradient-barrier Watershed ini mampu mengatasi pemisahan objek bertumpuk dengan baik pada objek citra sel, koloni biologi dan nanopartikel.

Penelitian ini mengusulkan sebuah skema baru dalam mendeteksi dan memisahkan sel darah putih bertumpuk untuk identifikasi jenis sel darah putih. Skema pada penelitian ini terbagi menjadi 4 proses, yaitu : segmentasi sel darah putih dari background menggunakan fuzzy c-means, deteksi sel darah putih bertumpuk menggunakan analisa distance marker, pemisahan sel darah putih bertumpuk menggunakan Gradient-Barrier Watershed dan klasifikasi jenis sel darah putih dengan Support Vector Machine.

2. PENELITIAN TERKAIT

2.1 Deteksi dan Kuantisasi Sel Darah Putih Bertumpuk

Proses deteksi sel darah putih bertumpuk dilakukan setelah proses segmentasi telah selesai. Umumnya pendeteksian dilakukan pada setiap connected component dengan memperhatikan informasi bentuk objek. Fathichah dkk menggunakan fitur eccentricity dan area dalam mendeteksi keberadaan sel bertumpuk. Hal ini didasarkan bahwa objek sel bertumpuk mempunyai nilai eccentricity dan mempunyai area yang lebih besar dari objek sel tunggal. Apabila objek sel memenuhi kedua persyaratan tersebut, maka objek tersebut dianggap merupakan objek sel darah putih bertumpuk.

Proses kuantisasi sel darah putih dilakukan dengan memperhatikan informasi objek. Fathichah dkk menggunakan fitur area sebagai penghitung jumlah sel darah putih bertumpuk. Pendekatan ini dilakukan dengan cara membagi area objek sel yang terdeteksi merupakan sel darah putih bertumpuk dengan nilai area sel tertentu. Nazlibilek dkk menggunakan informasi panjang major dan minor axis dalam menghitung sel darah putih. Pendekatan ini dilakukan dengan cara menghitung perbandingan rata-rata panjang major dan minor axis objek dengan rata-rata panjang major dan minor axis seluruh objek pada citra.

Kuantisasi sel darah putih pada kedua metode dihitung berdasarkan hasil koreksi terhadap ukuran. Apabila nilai perbandingan berada diantara 100%-200%, maka dilakukan koreksi dengan menambah jumlah sel sebesar 1. Berikutnya jumlah sel darah putih dikoreksi sebanyak kelipatan 1 sel setiap kenaikan nilai perbandingan diatas 100%.

2.2 Analisis Distance Marker

Tahap pertama metode melakukan pencarian marker objek dengan perhitungan distance transform atau inner-distance map. Distance transform merupakan proses pembuatan map piksel objek dengan nilainya adalah jarak terdekat sebuah piksel foreground terhadap piksel-piksel background (Felzenszwalb dkk, 2012). Adapun persamaan distance transform seperti ditunjukkan pada persamaan berikut.

$$D(p) = \min_{q \in B} d(p, q), p \in F \quad (1)$$

dimana p dan q merupakan koordinat piksel uji, B adalah himpunan piksel background dan F adalah himpunan piksel foreground.

Langkah selanjutnya adalah mencari local maxima pada map tersebut yang disebut sebagai marker. Piksel marker dalam map umumnya merupakan pusat dari objek itu sendiri. Pencarian piksel marker dalam citra harus memenuhi kriteria lokal maksimum, yaitu (i) nilai piksel marker lebih besar sama dengan dari piksel tetangga-tetangganya dan (ii) nilai piksel marker lebih besar tn piksel. Tujuan kriteria (ii) adalah untuk mengurangi pengaruh noise atau outlier. Berdasarkan kriteria tersebut, misalkan terdapat $I(a,b)$ adalah nilai piksel

marker pada koordinat piksel (a,b) dalam map distance marker, maka pencarian piksel marker harus memenuhi persamaan berikut.

$$I(i, j) = \{(I(i, j) \geq N_8(I)) \cap (I(i, j) > tn)\} \quad (2)$$

dimana $I(i,j)$ merupakan piksel marker dikoordinat i,j dengan ketetanggaan-8 piksel marker N_8 dan tn merupakan threshold nilai marker noise.

Untuk memperoleh informasi objek bertumpuk, dilakukan analisa distance marker dengan membuat daerah lingkaran pada masing-masing marker. Misalkan terdapat marker sebanyak n , maka terdapat daerah lingkaran (L_i) yang mempunyai titik pusat koordinat piksel marker (a_i, b_i) serta jari-jari lingkaran sebesar nilai piksel marker (R_i) sebanyak n buah. Daerah lingkaran setiap marker akan digabung sehingga membentuk daerah gabungan lingkaran (C_L), seperti ditunjukkan pada persamaan berikut

$$L_i = (x - a_i)^2 + (x - b_i)^2 \leq (R_i - to)^2$$

$$C_L = L_i \cup L_j, \quad i, j = 1, 2, \dots, n ; i \neq j \quad (3)$$

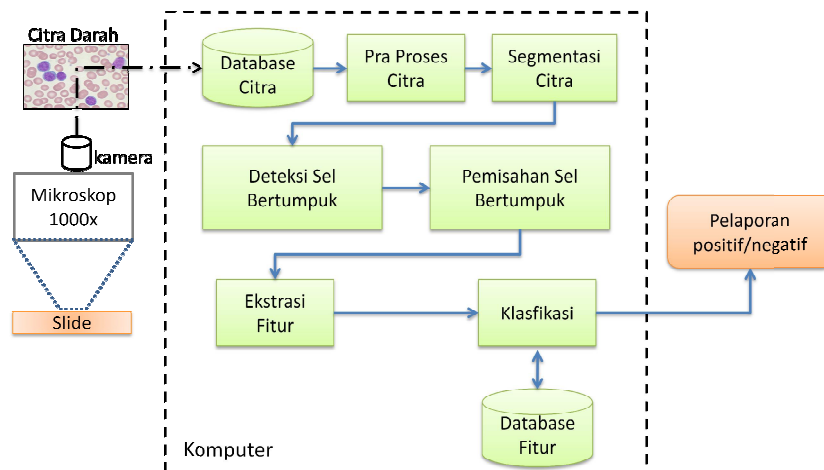
dimana L_i merupakan daerah lingkaran marker ke- i yang terbentuk pada koordinat piksel citra x,y . a_i, b_i adalah absis dan ordinat pusat piksel marker ke- i dan R_i merupakan radius lingkaran marker ke- i serta nilai threshold overlap objek to . C_L merupakan daerah gabungan lingkaran pada setiap marker ke- i dan ke- j sampai sebanyak n marker. Dengan asumsi bahwa terdapat marker-marker berjarak lebih besar dengan nilai marker-marker tersebut, maka akan terbentuk minimum dua daerah gabungan lingkaran (C_L) yang terpisah. Dalam keadaan seperti ini, maka objek tersebut dinyatakan bertumpuk.

3. METODE PENELITIAN

Setiap citra dataset dilakukan pre-proses dan segmentasi citra untuk mendapatkan objek sel darah putih. Pre-proses citra dilakukan dengan cara melakukan filtering menggunakan metode wiener dan laplacian filtering. Segmentasi citra sel darah putih dilakukan dengan menggunakan metode Fuzzy c-means (Scotti F, 2006) pada citra ruang warna L^*a^*b . Proses segmentasi dilakukan dengan Fuzzy c-means yang diikuti gray-level thresholding pada kanal b ruang warna citra L^*a^*b . Kombinasi kedua metode ini mampu memanfaatkan kelebihan kedua metode tersebut.

Post-processing dilakukan dengan proses opening dengan struktur elemen sebesar area kurang dari setengah rata-rata diameter sel. Apabila hasil citra segmentasi masih terdapat banyak noise, maka dilakukan opening kembali menggunakan prosentase referensi objek citra segmentasi terbesar. Untuk proses kuantisasi sel darah putih dilakukan analisis distance marker pada setiap conneted component. Apabila sebuah objek terdeteksi berjumlah lebih satu, maka dilakukan pemisahan objek sel darah putih bertumpuk menggunakan gradient barrier watershed.

Ekstraksi fitur objek pada penelitian ini menggunakan fitur geometri dan warna serta fitur tekstur. Pada penelitian ini terdapat 39 fitur yang terdiri dari 15 fitur bentuk dan warna, 14 fitur Gray Level Co-occurrence Matrix (GLCM) dan 10 fitur Local Binary Pattern (LBP) (Rezatofighi dkk, 2011). Setiap sel darah putih hasil pada tahap sebelumnya dilakukan identifikasi jenis sel menggunakan metode klasifikasi Support Vector Machine (SVM). Klasifikasi SVM menggunakan pendekatan multikelas One Against One dengan fungsi kernel linier. Adapun skema penelitian seperti pada gambar 1 berikut.

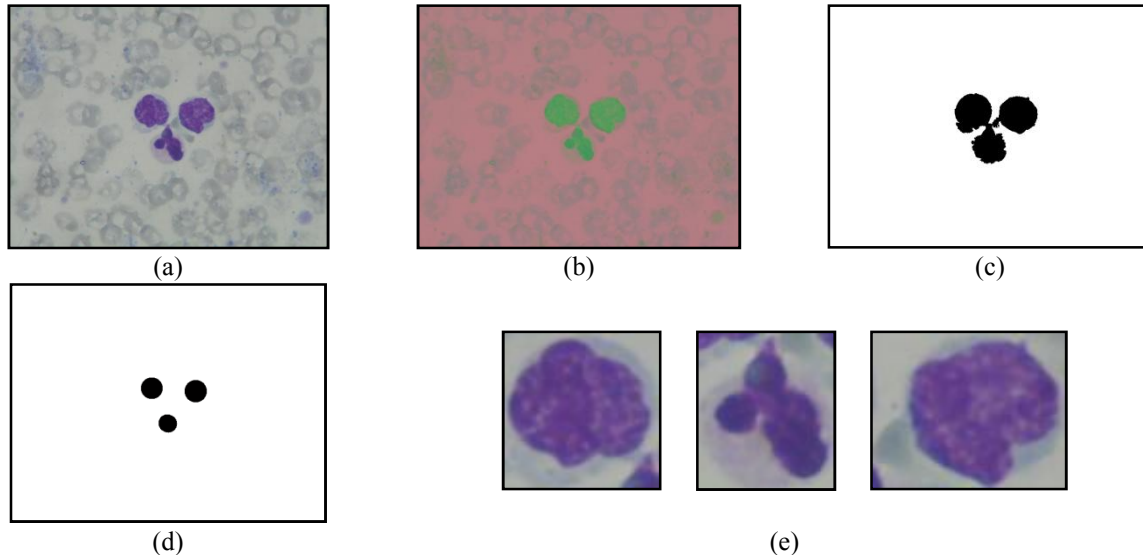


Gambar 1. Rancangan Skema Penelitian

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Dataset Penelitian

Objek pada penelitian ini diambil dari hapusan darah manusia normal dengan teknik pewarnaan Geimsa. Jumlah slide hapusan darah manusia yang digunakan sebanyak 5 slide. Pengamatan sel darah putih sebanyak 5 slide menggunakan Mikroskop Binokuler Olympus model CX dengan perbesaran 1000x dan pencahayaan mikroskop yang tetap. Akuisisi citra sel darah putih diambil dengan menggunakan kamera Sony Cybershot tipe W810 beresolusi 640 x 480 piksel. Jumlah citra hasil akuisisi sebanyak 70 citra latih dan 32 citra uji. Citra latih merupakan citra berisi sel darah putih tunggal, sedangkan citra uji merupakan citra sel darah putih yang berjumlah lebih dari satu, baik bertumpuk maupun tidak bertumpuk.



Gambar 2. (a) Citra Input, (b) Citra Pre-proses, (c) Hasil Segmentasi, (d) Analisis Distance Marker (e) Hasil Pemisahan Sel Darah Putih Bertumpuk

4.2 Deteksi dan Pemisahan Sel Darah Putih Bertumpuk

Deteksi dan perhitungan jumlah sel darah putih menggunakan metode Analisis Distance Marker memerlukan dua parameter, yaitu nilai threshold noise dan threshold overlap. Jumlah marker dalam pencarian marker pada map distance transform dapat berjumlah lebih dari satu pada setiap objek. Umumnya marker yang berada ditengah objek merupakan representasi sesungguhnya dari objek sel itu sendiri. Marker yang berada di tepi objek tidak mempunyai peran signifikan, sehingga diperlukan pemilihan marker yang baik. Nilai threshold noise bertujuan memilih kandidat marker objek. nilai threshold noise sebesar 20 piksel pada penelitian ini sudah cukup untuk menghilangkan marker noise.

Parameter nilai threshold overlap merupakan representasi dari derajat bertumpuknya objek. Nilai overlap objek sangat bergantung pada jenis dan kondisi objek itu sendiri. Pada objek yang bersifat keras, mungkin nilai overlap ini tidak terlalu besar dan begitu pula sebaliknya. Semakin besar nilai threshold overlap objek, semakin baik pula dalam menghitung sel darah putih. nilai threshold overlap disarankan agar menggunakan nilai tidak lebih besar dari 50%. Penggunaan nilai threshold overlap lebih nilai tersebut dapat menyebabkan hilangnya informasi bertumpuk objek itu sendiri. nilai threshold overlap yang baik pada citra penelitian ini sebesar 35% dari nilai marker objek.

Tabel 1. Tabel Akurasi Citra Teridentifikasi Mempunyai Jumlah Sel Benar dengan berbagai metode

Analisis Distance Marker	Geometri-1 (Eccentricity dan luas objek)	Geometri-2 (Major/Minor axis Objek)
87,50	81,25	25,00

Hasil pengukuran akurasi hit citra dengan jumlah sel benar menunjukkan bahwa metode Analisis Distance Marker cukup baik dibandingkan metode terkait lainnya. Permasalahan menggunakan pendekatan fitur geometri adalah gagalnya proses deteksi bertumpuk, under-counting dan over-counting. Kedua metode terkait bergantung pada informasi bentuk yang baik serta keberadaan objek sel darah putih lainnya dalam citra.

Pendekatan Analisis Distance marker menggunakan pendekatan kedalaman bertumpuknya antar objek melalui marker objek. Metode Analisis Distance Marker meminimalisir terjadinya kesalahan pada pendeteksian dan perhitungan objek sel bertumpuk oleh penggunaan fitur geometri. pendekatan metode Analisis Distance Marker tidak menggunakan fitur geometri, sehingga lebih robust terhadap bentuk dan ukuran objek.

Keberhasilan metode Analisis Distance Marker bergantung pada hasil segmentasi, pemilihan kandidat marker objek dan informasi kedalaman bertumpuknya antar objek yang baik.

Proses pemisahan gradient barrier watershed menggunakan informasi gradient citra dalam proses water flooding watershed. Pada batas gradient tertentu digunakan penghalang atau barrier dalam proses water flooding. Nilai threshold gradient barrier tercatat $\geq 0,35$. Nilai ini lebih besar dari nilai maksimum gradient citra. Hal ini menunjukkan bahwa tidak ada nilai gradient yang dijadikan penghalang (barrier) dalam proses water flooding. Dalam objek penelitian sel darah putih terdapat nukleus dan sitoplasma sel dengan nilai gradient terbesar terdapat pada batas antara nukleus dan sitoplasma. Metode gradient barrier watershed hanya akan memisahkan nukleus dan sitoplasma saja. Proses pemisahan gradient barrier watershed untuk objek sel darah putih bukan merupakan metode pemisahan sel yang optimal.

4.3 Klasifikasi

Hasil klasifikasi SVM, nilai Recall tertinggi terjadi pada jenis sel Eosinofil dan Basofil, seperti ditunjukkan pada Tabel 2. Jenis sel Eosinofil dan Basofil memiliki fitur yang berbeda dengan fitur jenis sel lainnya. Fitur warna pada kedua jenis sel ini merupakan fitur yang paling dominan. Fitur warna sel darah putih pada kanal a* juga menunjukkan nilai rata-rata warna yang maksimum dan minimum pada kedua jenis sel ini. Hal ini menunjukkan bahwa fitur warna kedua jenis sel tersebut berbeda dengan fitur warna jenis sel lainnya.

Nilai miss rate tertinggi terjadi pada jenis sel Netrofil. Jenis sel Netrofil memiliki fitur yang hampir sama dengan jenis sel lainnya, khususnya dengan jenis sel Monosit. Penampakan morfologi antara jenis sel Netrofil dan Monosit hampir mirip. Perbedaan morfologi jenis sel Netrofil dan Monosit hanya pada struktur Nukleus, yaitu granular dan non-granular. Nilai parameter statistik fitur jenis sel Netrofil juga hampir berdekatan dengan fitur jenis sel lainnya, sehingga menyebabkan hasil identifikasi memiliki nilai miss rate yang tinggi pada jenis sel Netrofil.

Tabel 2. Tabel Perhitungan Recall Dan Miss Rate pada Hasil Klasifikasi SVM

Jenis Sel	Recall	Miss Rate
Monosit	68,18	31,82
Netrofil	40,74	59,26
Limposit	86,96	13,04
Eosinofil	100	0,00
Basofil	100	0,00

5. KESIMPULAN

Metode Analisis Distance Marker lebih robust terhadap bentuk dan ukuran objek. Keberhasilan metode Analisis Distance Marker bergantung pada hasil segmentasi, kandidat marker objek dan informasi kedalaman bertumpuknya antar objek yang baik. Tingkat keberhasilan metode Analisis Distance Marker cukup baik dibandingkan metode perhitungan menggunakan pendekatan geometri. Tingkat keberhasilan metode Analisis Distance Marker mencapai 87,5%.

Metode gradient barrier watershed tidak cukup optimal dalam objek penelitian ini. Nilai gradient barrier yang besar saja yang dapat memisahkan sel bertumpuk dengan baik. Klasifikasi dengan metode Support Vector Mechine cukup baik menggunakan pendekatan multikelas One Against One dengan menggunakan fungsi kernel linier pada penelitian ini. Tingkat keberhasilan klasifikasi menggunakan SVM mencapai 67,09%

DAFTAR PUSTAKA

- Saraswat, M. dan Arya, K. V, (2014). *Automated microscopic image analysis for leukocytes identification: a survey*. Micron (Oxford, England : 1993), Vol. 65, Hal. 20–33.
- Fathichah, C., Purwitasari D., Hariadi V., Effendy F., (2014), *Overlapping White Blood Cell Segmentation and Counting on Microscopic Blood Cell Images*, Int. Journal on Smart Sensing and Intelligent Systems, Vol. 7, No. 3., Hal 1271-1286.
- Nazlibilek, S., Karacor, D., Ercan, T., Sazli, M. H., Kalender, O., dan Ege, Y., (2014), *Automatic segmentation, counting, size determination and classification of white blood cells*. Measurement, Vol. 55, Hal. 58–65.
- Bai X., Sun C., Zhou F., (2009), *Splitting touching cells based on concave points and ellipse fitting*, Pattern Recognition, Vol. 42, Hal. 2434–2446.
- Lin. P., Chen Y.M., He Y., Hu. G.W., (2014), *A novel matching algorithm for splitting touching rice kernels based on contour curvature analysis*, Computers and Electronics in Agriculture, Vol. 109, 124-133.
- Yu. D., Pham T.D., Zhou X., (2009), *Analysis and recognition of touching cell images based on morphological structures*, Computer in Biology and Medicine, Vol. 39, Hal. 27-39.

- Yang, H. dan Ahuja, N., (2014). *Automatic segmentation of granular objects in images: Combining local density clustering and gradient-barrier watershed*. Pattern Recognition, Vol. 47, No.6, Hal. 2266–2279.
- Felzenszwalb, P. dan Huttenlocher, D., (2012), *Distance Transforms of Sampled Functions*.
- Scotti F, (2006), *Robust Segmentation and Measurement Techniques of White Blood Cells in Blood Microscope Images*, Instrumentation and Measurement Technology Conference, Hal. 43-48
- Rezatofighi, S.H. dan Soltanian-Zadeh, H., (2011), *Automatic recognition of five types of white blood cells in peripheral blood*. Computerized medical imaging and graphics : the official journal of the Computerized Medical Imaging Society, Vol. 35, No.4, Hal. 333–43.